

化学结构与生物活性： N-取代氨基甲酸乙酯的合成与驱蚊活性

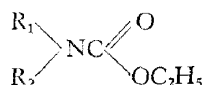
驱避剂研究组

(中国科学院动物研究所)

摘要 用氯甲酸乙酯与不同的胺类反应,合成了一系列取代氨基甲酸乙酯类化合物。用埃及伊蚊(*Aedes aegypti* L.)进行驱避活性测定,所得结果表明, N-一元取代化合物的效果,以 K-1023 较明显。在 N, N-二元取代化合物中,以 K-1065 的效果最好。一些化合物的分配系数与驱避比值的对数值之间,大致有一条直线关系,分配系数低时,驱避比值大致要高一些。在所测化合物的红外强吸收峰波数与驱避比值,看不出有相关性。

前言

使用驱避剂是预防疟疾传染和保护人民健康的重要措施之一。三十多年来许多科学工作者研究了不同类型的大量的有机化合物,试图寻找性能优异的驱蚊药物(King, 1954; Smith, 1967)。自 50 年代 DETA 作为有效的驱避剂报道以来(McCabe 等, 1954; Gilbert 等, 1955, 1957),人们深入地研究了它的化学结构、理化性质与驱避活性的关系,其中包括苯环上不同取代基的位置和酰胺基上氨基的变化,羰基的氧变为氮等,都未得到预期的结果(Johson 等, 1968; Garson 等, 1970)。多年来许多从事这方面研究的工作者,曾注意到在已知有效的驱避化合物中,酰胺类化合物占相当多数,并认为在酰胺分子中胺基的变化,对驱避效果具有重要的影响(Батаев 等, 1964)。Маслин 等(1970)曾对氨基甲酸酯类进行了研究,发现这类化合物有较高的驱避活性,它的驱避有效基团是 $\text{>NC} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{O} \end{smallmatrix}$, 这与 DETA 有效基团的基本结构相类似。有人曾进一步指出,驱避剂有两个中心,即亲电中心和亲核中心,这在驱避剂分子中是不可缺少的。并阐明了酰胺这一有效基团在 DETA 驱避活性中的作用,而且预言在不久的将来会有更有效的驱蚊药物出现(Kashin, 1967)。本文报道一系列不同取代氨基甲酸乙酯,通式为:



其中 R_1 为烷基、环烷基、苯基、取代苯基、呋喃基; R_2 为烷基、酰基或氢;或 R_1R_2 为吡咯啉、吗啡啉、哌啶、2-甲基哌啶、四氢哌啶、四氢喹啉等。合成方法是(1)取代伯胺和仲胺与氯甲酸乙酯在苯中进行反应,用三乙胺脱氯化氢。(2)甲酰或乙酰替苯胺在苯中与金属钠变为钠盐,然后与氯甲酸乙酯缩合。其反应式如下:

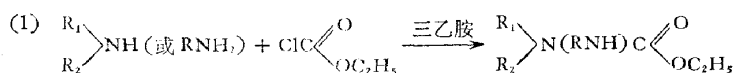

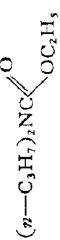




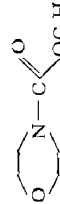
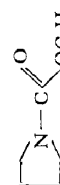


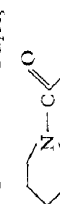



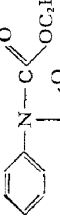



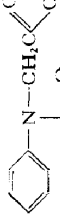
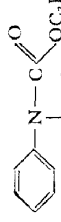
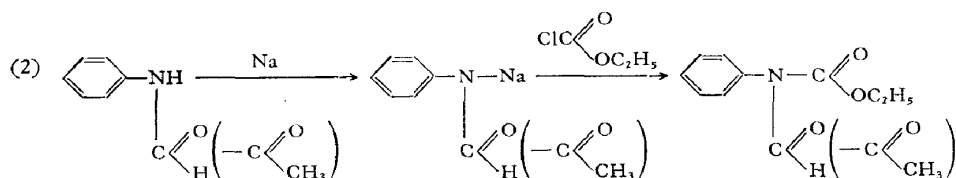


表 1 N-取代氨基甲酸乙酯的化学结构和物理常数

化 合 物 编 号	结 构 式	沸 点* (°C/毫米)	N _D ²⁰	红外强吸 收峰波数 (cm ⁻¹)	元 素 分 析			
					C		H	
					计算值	实验值	计算值	实验值
K-1014		76—9/14 ⁽¹⁾	1.4261		62.42	61.86 61.94	10.98	11.13 11.12
K-1015		87—9/14 ⁽²⁾	1.4283	410	62.42	61.86 61.80	10.98	10.98 11.21
K-1016		116—7/14 ⁽³⁾	1.4633	635	61.14	61.03 61.13	9.55	10.03 9.78
K-1017		熔点 54—55°C ⁽⁴⁾ (苯-石油醚)						
K-1018		102—3/14 ⁽⁵⁾	1.4308		57.91	57.77 57.91	10.20	10.94 10.64
K-1019		93—4/14 ⁽⁶⁾	1.4584	650	61.14	61.02 60.87	9.55	9.60 9.62
K-1020		103/14 ⁽⁷⁾	1.4590	570				
K-1021		94—7/14 ⁽⁸⁾	1.4544		58.60	58.09 58.22	9.09	9.22 9.10
K-1022		135—7/14 ⁽⁹⁾	1.4398	635	64.17	64.14 63.88	11.23	10.84 11.10
K-1023		66—9/0.07 ⁽¹⁰⁾	1.4807	595				
K-1024		102—4/14 ⁽¹¹⁾	1.4592		63.15	64.04 62.87	9.94	10.38 10.20
							8.18	8.20 8.31

K-1025		98—100/14 ⁽¹²⁾	1.4750	580	61.93	61.84 62.06	8.39	8.73 8.50	9.03	8.98 8.99
K-1063		熔点 39—41°C ⁽¹³⁾				62.99 63.11	7.17	7.42 7.15	6.70	6.91 6.88
K-1064		125—6/5 ⁽¹⁴⁾	1.5351	510	65.45	66.12 66.36	6.92	7.25 7.12	8.48	8.69 8.33
K-1065		94—6/0.03 ⁽¹⁵⁾	1.5307	690						
K-1066		93—4/0.04 ⁽¹⁶⁾	1.5388	440	68.39	69.08 68.99	7.77	7.38 7.39	7.25	7.55 7.23
K-1107		89—90/0.02 ⁽¹⁷⁾	1.5458	400	70.19	70.43 70.07	7.31	7.16 7.04	6.82	6.72 6.74
K-1119		68—9/1 ⁽¹⁸⁾	1.4612(25°C)		63.15	62.83 62.95	9.94	9.82 10.23	8.19	8.32 8.26
K-1140		95—6/0.03 ⁽¹⁹⁾	1.5320	695	63.77	63.55 63.74	6.28	5.78 5.84	6.76	6.89 6.82
K-942		81—4/0.03 ⁽²⁰⁾	1.5292						6.76	7.45 7.46

* (1) 见 J. Org. Chem. **23**, 1152 (1958); (2) Ber. **53**, B 150—8 (1920); (3) J. Am. Chem. Soc. **75**, 1729 (1953); (4) J. Am. Chem. Soc. **72**, 5592 (1950); Bull. Soc. Chem. France 1951, 802—6; (5) J. Chem. Soc. **115**, 1010 (1939); (6) J. Chem. Soc. 1948, 874—81; (12) (17) 见 Beil. **22**, (489) 58, 59; (13) Beil. **13**, 480; (14) (15) (19) (20) Beil. **12**, 320 (218); 433, 434, 476; (18) Ж. орган. хим. **6**(4) 706 (1970); (10) Beil **17**, 248; (7) (8) (9) (11) (16) 未见报道。



同时,为了比较驱避活性,由甲酰替苯胺和溴乙酸乙酯用第二个方法合成了 N-苯基 N-甲酰氨基乙酸乙酯。

用所合成的化合物进行了对埃及伊蚊 (*Aedes aegypti* L.) 的驱避效果以及化合物的分配系数,红外吸收光谱的测定¹⁾等,从而研究化学结构、分配系数和红外强吸收峰波数与驱避活性之间的关系。

实 验 部 分

1. 取代氨基甲酸乙酯的合成

(1) N-取代, N, N-二取代氨基甲酸乙酯: 将 N, N-二异丙胺 (Маслин 等, 1970) 0.25 克分子溶于 200 毫升苯中,加入三乙胺 0.25 克分子,在搅拌的情况下,徐缓滴加氯甲酸乙酯 0.25 克分子及 100 毫升苯,反应并用冷水冷却。滴加后室温下搅拌一小时,再加热迴馏并搅拌一小时。放冷后滤出沉淀,蒸出溶剂,剩余物真空蒸馏。所用各种胺类、氯甲酸乙酯和三乙胺等均为化学纯试剂。各化合物的物理常数见表 1。

(2) N-苯基 N-甲酰(或乙酰)氨基甲酸乙酯和 N-苯基-N-甲酰氨基乙酸乙酯: 将 N-甲酰替苯胺 (Allen 和 Bell, 1944) (或乙酰替苯胺) 0.15 克分子及 70 毫升干燥苯,在搅拌情况下加入金属钠屑 0.15 克原子,使全部作用。然后滴加氯甲酸乙酯(或溴乙酸乙酯) 0.15 克分子及 20 毫升干燥苯,反应并用冷水冷却。滴加后,室温下搅拌一小时,再加热迴馏并搅拌三小时。放冷后滤出沉淀,滤液用水洗后干燥。蒸去溶剂,剩余物真空蒸馏。物理常数见表 1。

2. 对埃及伊蚊的驱避测定

先将背部毛已剪光 (6×6 厘米) 的豚鼠,放入特制的木盒内,使其不能移动。在盒盖的中部暴露已剪毛的皮肤。用微量注射器取 0.1 毫升药滴在皮肤上,边滴边用一端有一平方厘米面积的小玻棒涂抹均匀。测定时,使豚鼠涂药的皮肤露出 5×5 厘米,然后放入蚊笼中,暴露 2 分钟,并观察叮血蚊数。每隔约一小时观察一次,直至第一次有雌蚊吸血即作为测定的化合物失效。

将 20 种化合物分为 5 组。每种化合物配成 50% 的乙醇溶液,DETA 为 12.5% 乙醇溶液。每组试验均用 DETA 比较,重复 4 次。5 个组 DETA 的保护时间用方差分析,各组间的试验条件变差不明显。在此基础上求出 DETA 的平均保护时间为 459 分钟。并用多重比较 (multiple comparisons) 的 t 法,计算 20 种化合物和 DETA 的保护时间的显著性差数约为 190 分钟 (显著性水平为 5%)。每个化合物与 DETA 保护时间的比值,作为驱避效果的比较,结果见表 2。

1) 红外吸收光谱由中国科学院化学研究所测定。

用同样的测定方法，比较了 K-1023，K-1065 的原油与 DETA 原油的效果，药量为 0.05 毫升，结果见表 2。

表 2 N-取代氨基甲酸乙酯对埃及伊蚊的驱避效果、毒性及分配系数

化 合 物	保 护 时 间 (分钟)		分 配 系 数	原油保护时间 (小时)	LD ₅₀ (小白鼠) (毫克/公斤)
	试 验 化 合 物	与 DETA 比值			
K-1014	3	0.007	31.98	6	
K-1015	4	0.009	—		
K-1016	124	0.270	7.02		
K-1017	148	0.322	—		
K-1018	72	0.157	6.35		
K-1019	4	0.009	—		
K-1020	52	0.113	0.30		
K-1021	3	0.007	—		
K-1022	84	0.183	5.52		
K-1023	399	0.869	1.69		
K-1024	2	0.004	—		
K-1025	2	0.004	—		
K-1063	2	0.004	—	10	2.970
K-1064	4	0.009	—		
K-1065	493	1.074	0.87		
K-1066	3	0.007	—		
K-1107	115	0.251	1.02		
K-1119	130	0.298	3.28		
K-1140	56	0.122	1.34	15	1.400
K-942	3	0.007	—		
DETA	459	1.000			

3. 毒性测定

将 DETA 和 K-1065 用体重为 18—20 克的小白鼠进行胃灌注射，一次口服 0.2 毫升，24 小时后检查死亡率，依梯级上下测定法计算 LD₅₀，结果见表 2。

4. 分配系数测定

根据 Zirvi 等 (1969) 和 Collander (1950) 方法，将 400 毫克化合物样品，加入 20 毫升正辛醇 (经 6N H₂SO₄、6N NaOH 依次处理，并用蒸馏水洗至中性) 使溶解。然后加入 200 毫升蒸馏水 (经正辛醇饱和)，在恒温 25℃ 水浴内，充分搅拌一小时，离心 20 分钟 (3,200 r. p. m.) 后，分开有机层和水层。

将有机层和水层分别取一定量，用凯氏定氮法测定两相中化合物的浓度，并计算各化合物的分配系数。结果见表 2。

讨 论

由表 2 中的结果可以看出，在 N-取代的氨基甲酸乙酯化合物中，N—取代化合物的取代基为呋喃、环烷和直链烷基的驱避效果，略优于取代基为氮杂环的 N，N-二取代化合物。在 N，N-二取代化合物中，取代基增大如四氢喹啉、六次甲基亚胺等，则驱避活性

增高。但在N上的取代基为苯环的化合物中,如N上再取代一个甲酰基则活性增高。

在一元取代化合物中,呋喃、环烷和直链烷基的效果,要比苯环取代化合物高,其中以N-(α -氨基呋喃)甲酸乙酯为最明显。在苯环取代的甲酸乙酯中,苯环上无论引入乙氧基或3,4-二甲基都未能增加其活性。在二元取代化合物中,含氮杂环的只有六次甲基亚胺和四氢喹啉基的效果较好,其他在环上引入甲基、环中引入氧原子或双键等,对其活性都没有明显的影响。但在N-苯基甲酸乙酯(K-1064)分子中,氮上的氢被甲酰基取代时(K-1065),其活性明显地增高。如被乙酰基取代时,则活性不仅没有提高,反而会降低

(K-942)。这可能是由于分子中甲酰基直接与氮相连(甲酰基 $\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{H} \end{smallmatrix}$ 相当于醛基)使氮原子更带正电性,使整个分子极性加强,因而增强了活性。但在N-苯基N-甲酰氨基甲酸乙酯分子中,氮与羧酸酯基中间引入一个次甲基,活性会降低,可能是由于破坏了氨基甲酸酯的基本结构,其中不含有酰氨基,因而活性降低。

一个具有驱蚊效果的化合物。它本身固有的驱避活性的强弱和有效时间的长短,不仅与该化合物的分子结构有关,而且还与它的物理性质有关。作为涂抹驱蚊化合物,在皮肤的表面空间散发出的药量与该化合物的蒸气压有关,而蒸气压又与每个化合物的沸点成反相关。沸点太低会影响滞留时间,使有效时间缩短,如沸点太高则挥发性减弱,以致影响驱避活性。从所试的化合物中,可以看出,在化学结构相似的情况下,相同压力下的沸点较高时,则驱避效果也较高。由图1可以说明,同一系列化合物的驱避活性,有随沸点升高的趋势。这与 Цизин (1972) 和 Johnson 等 (1967) 的结论是一致的。

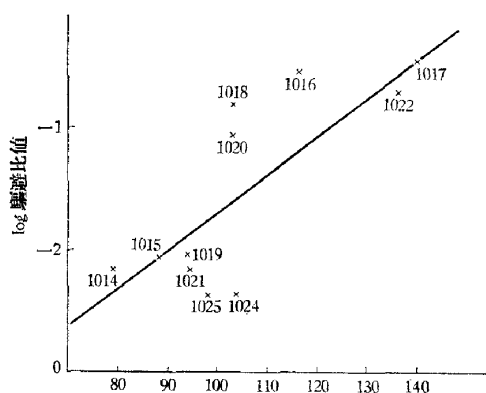


图1 化合物的沸点与驱避活性的关系
(号码表示化合物编号)

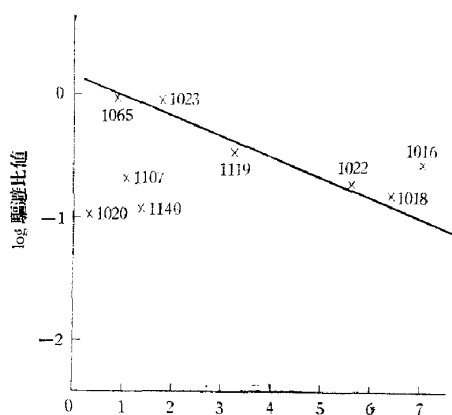


图2 化合物分配系数与驱避比值的
(图中号码系化合物编号)

一般认为效果较好的驱蚊剂的作用,是必须通过皮肤表面散发出来的分子,作用于昆虫的化学感受器官。而化合物是涂在皮肤上,又要与皮肤表面有一定的亲合性,因此它不仅要有一定程度的脂溶性,而且还需要对水有一定的溶解度。Roadhouse (1953) 认为最有希望的驱避剂,应当有最高的脂和水的溶解度。从表2中的结果来看,似乎驱避活性高的化合物,分配系数趋向低一些。以一些化合物的分配系数与驱避比值的对数值作图,可粗略地绘出一条直线,这种情况与 Roadhouse 的结论,是相吻合的。在图2中有几个点距

离直线较远,这可能是由于 K-1020 的咖啡因是极性基团,在水中的溶解度大,因而易于水解失效。K-1140 是否由于改变了氨基甲酸酯的基本结构,虽然分配系数也近于 1,但驱避比值较低。而 K-1107 和 K-1016 二者驱避比值相近,分配系数差别较远,还无法解释。

Wright 等 (1956; 1962) 对很多已知驱避剂测量了红外吸收光谱,认为这些驱避剂的吸收光谱在 $449-471\text{ cm}^{-1}$ 之间。从表 2 中结果可以看出,在所测量的化合物的强吸收峰与驱避活性,看不出有什么相互关系。

综上所述可以认为:

(1) 取代氨基甲酸乙酯化合物,氨基的变化对驱避效果有重要的影响。在 N-一元取代化合物中,取代基为呋喃、环烷、直链烷基的活性略大于氮杂环的二元取代化合物,以 N-(α -氨基呋喃)甲酸乙酯的效果较好。N-一元取代基为苯环化合物的活性,有与上相反的趋势,其中以 N-苯基 N-甲酰氨基甲酸乙酯的效果最高。

(2) 所试同一系列化合物,由于碳链的增长,或引入烷基等变化,它的效果有随沸点升高而增强的趋势。一般固体化合物的效果要低一些。

(3) 化合物的分配系数与驱避效果有一定的关系。活性高的化合物,分配系数应近于 1。即该化合物的脂和水的溶解度都大。

(4) 在所测化合物红外强吸收峰波数 (cm^{-1}) 与活性,看不出有正相关性。

参 考 文 献

- Allen, C. F. H. and A. Bell 1944 Ethyl N-tricarboxylate. *Org. Syntheses* 24:60.
- Collander, R. 1950 The distribution of organic compounds between iso-butanol and water. *Acta Chem. Scand.* 4:1085.
- Garson, L. R., J. H. Buckner, et al. 1970 Insect repellency of N,N-diethyl-m-toluamidine nitrogen isostere of Deet. *J. Eco. Entom.* 63(4):1116—7.
- Gilbert, I. H., H. K. Gouck and C. N. Smith 1955 New mosquito repellents. *J. Eco. Entom.* 48(6): 741.
- 1957 New insect repellents. *Soap Chem. Spec.* 33(6):95, 99, 109.
- Johson, H. L., W. A. Skinner, H. I. Maibach, and T. R. Pearson 1967 Repellent activity and physical properties of ring-substituted N,N-diethyl-benzamides. *J. Econ. Entom.* 60:173—76.
- Johson, H. L., W. A. Skinner 1968 Topical mosquito repellent. 11, Repellent potency and duration in ring-substituted N,N-dialkyl-and-Aminoalkylbenzamide. *J. Med. Chem.* 11:1265.
- Kashin, P. 1967 "Development of an orally effective insect repellent." Annual progress report No. 11TRI-L6021-12 contract No. DA 49-193-MD-2281 11T Research Institute Technology Center Chicago, Illinois 60616 A. D. 663818.
- King, W. V. 1954 Chemical evaluated as insecticides and repellents at Orlando, Fla, U. S. Dept. Agr. Handbook 69.
- McCabe, E. Y., W. F. Barthel, S. I. Gertler & S. A. Hall 1954 Insect repellents. III N,N-diethylamides. *J. Org. Chem.* 19:493—98.
- Roadhouse, L. A. O. 1953 Laboratory studies on insect repellency. *Can. J. Zool.* 31:535—46.
- Smith, C. M. 1967 Agricult. Handbook USDA. 1967 No. 340.
- Wright, R. H. 1956 Physical basis of insect repellency. *Nature* 178:638.
- Wright, R. H. and R. E. Kellogg 1962 Mosquito attraction and repulsion. *Nature* 195:404.
- Zirvi, K. A. et al. 1969 The Biochemorphology of cyclobutanecarboximides. *J. Med. Chem.* 12(5):923.
- Батаев, П. С., В. И. Ставровская 1964 Проблемы медицинской паразитологии и профилактики инфекций стр. 542—4.
- Маслин, Л. К., А. П. Качанова, В. Б. Каждан 1970 N, N-дизамещенные эфиры карбаминовой кислоты. *Ж. органической химии* 6: 706—7.

Цизин, Ю. С., В. В. Владимирова, О. Н. Лучковская 1972 К вопросу о связи между химическим строением и отпугивающими свойствами паров репеллентов. *Мед. паразит и паразит боле.* 12(2): 180—5.

外 文 摘 要

CHEMICAL STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY: SYNTHESIS OF N-SUBSTITUTED ETHYL CARBAMATES AND THEIR MOSQUITO REPELLENT ACTIVITIES

SECTION OF INSECT REPELLENT RESEARCH

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

A series of ethyl N-substituted carbamates was synthesized by the reaction of ethyl chlorocarbamate with the appropriate amines. These chemicals were evaluated for repellent activity to mosquitoes (*Aedes aegypti* L.) on the treated backs of guinea pigs. The results indicated that among the N-monosubstituted compounds tested the ethyl N-(2-furyl) carbamate was most active, but in N,N-disubstituted carbamates the ethyl N-phenyl N-formyl carbamate was superior.

A rough linear relationship between partition coefficient and logarithm value of repellent ratio was observed, a lower partition coefficient would correspond to a higher repellent ratio of the compounds tested.

There is no correlation between the far infrared spectra and repellent ratio of all compounds tested could be observed.